

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

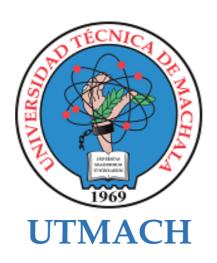
CARRERA DE ACUICULTURA

Variación temporal de la concentracion de bacterias heterotroficas, vibrios y pseudomonas durante la transición intermareal en el estero Huayla

BUSTAMANTE CARRION KAREN CECIBEL INGENIERA ACUICOLA

LOPEZ OLIVES PAUL ARSENIO INGENIERO ACUICOLA

MACHALA 2023



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

Variación temporal de la concentracion de bacterias heterotroficas, vibrios y pseudomonas durante la transición intermareal en el estero Huayla

BUSTAMANTE CARRION KAREN CECIBEL INGENIERA ACUICOLA

LOPEZ OLIVES PAUL ARSENIO INGENIERO ACUICOLA

MACHALA 2023



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Variación temporal de la concentracion de bacterias heterotroficas, vibrios y pseudomonas durante la transición intermareal en el estero Huayla

BUSTAMANTE CARRION KAREN CECIBEL INGENIERA ACUICOLA

LOPEZ OLIVES PAUL ARSENIO INGENIERO ACUICOLA

VELASQUEZ LOPEZ PATRICIO COLON

MACHALA 2023

Tesis Lopez- Bustamante turnitin.docx

por Paul Lopez Olives

Fecha de entrega: 12-mar-2024 10:00a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2315558284

Nombre del archivo: Tesis_Lopez-_Bustamante_turnitin.docx (1.56M)

Total de palabras: 5183 Total de caracteres: 27210

Tesis Lopez- Bustamante turnitin.docx

INFORME DE ORIGINALIDAD

%
INDICE DE SIMILITUD

1%

FUENTES DE INTERNET

0%
PUBLICACIONES

0%
TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

www.coursehero.com

Fuente de Internet

<1%

2

www.revistabionatura.com

Fuente de Internet

<1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 15 words

Excluir bibliografía

Activo

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

Los que suscriben, BUSTAMANTE CARRION KAREN CECIBEL y LOPEZ OLIVES PAUL ARSENIO, en calidad de autores del siguiente trabajo escrito titulado Variación temporal de la concentracion de bacterias heterotroficas, vibrios y pseudomonas durante la transición intermareal en el estero Huayla, otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Los autores declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las dispociones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

Los autores como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

BUSTAMANTE CARRION KAREN CECIBEL

0750524001

LOPEZ OLIVES PAUL ARSENIO

0707100384

AGRADECIMIENTO

Queremos expresar nuestro más sincero agradecimiento a nuestros padres, quienes han sido un apoyo incondicional en cada paso de nuestro camino, desde nuestros primeros años hasta nuestra etapa universitaria. Valoramos profundamente el amor y el compromiso que nos han brindado a lo largo de nuestra educación, reconociendo su papel fundamental en nuestro éxito académico y personal. Sin su constante apoyo y orientación, no podríamos haber alcanzado nuestras metas y aspiraciones. Estamos eternamente agradecidos por todo lo que han hecho por nosotros y por ser nuestros mayores impulsores en el camino hacia el logro de nuestros sueños.

Extendemos nuestro agradecimiento al Dr. Colon Velázquez Lopez por su valioso tiempo, entrega y orientación como nuestro principal mentor en esta investigación que se desarrolló con la ilusión de seguir sus pasos en el ámbito de indagación científica. La profunda pasión y conocimiento que nos brindó dentro de los salones de clases son enseñanzas que nos acompañaran en todo nuestro desarrollo profesional ampliando nuestra visión para ser una mejor versión de nuestros antecesores.

Queremos expresar nuestro sincero agradecimiento al Dr. Roberto Santacruz, Ph.D., al Dr. Patricio Rentería, Ph.D., y a la Dra. Lita Sorroza, Ph.D., por su colaboración continua y orientación. Siempre estuvieron disponibles para aclarar nuestras dudas y nos brindaron un apoyo inestimable a lo largo de nuestro camino académico y nuestro trabajo de titulación.

Queremos expresar nuestra más profunda gratitud a nuestros amigos más cercanos, quienes ahora se han convertido en colegas, con los que hemos compartido esta increíble etapa llena de buenos y malos momentos. Les agradecemos sinceramente por su apoyo invaluable, su paciencia y su amistad a lo largo de estos años de estudio.

Paul & Karen

DEDICATORIA

Esta tesis me la dedico a mí con mucho cariño, por no rendirme en el proceso, por mantenerme enfocada en el tiempo destinado a la elaboración de la presente tesis.

Todo mi esfuerzo dedicado a lo largo de mi vida académica y en este trabajo de investigación quiero dedicarlo a mi madre Irma Teresa Carrion Robles y a mi hermana Lady Yadira Bustamante Carrion, por su apoyo y amor incondicional, por el sacrificio para brindarme la mejor educación posible. También a mi hermano Joffre Daniel Bustamante Carrion y demás familiares por su apoyo y comprensión en los momentos más difíciles

Es dedicado a mi pareja por su constante apoyo, y confianza en mis capacidades para lograr cada meta que me proponga, y por sus palabras de amor y afirmación constante, así como a todos aquellos que han contribuido de alguna manera a este logro.

Karen Bustamante

Un agradecimiento enorme a mis padres Arsenio Lopez y Eneita Olives que sin su guía y apoyo constante no podría haber llegado a donde estoy, que todo el esfuerzo y sacrificio que hicieron no fue en vano y que sigan guiándome por mucho tiempo más, a mi hermano Kevin Lopez que quiero ser un ejemplo a seguir para él y agradecerle por ayudarme siempre y cuando más lo he necesite, a Zoe por desvelarse conmigo acompañándome mientras hacía tareas, a mis tíos y tías por el apoyo y cariño incondicional simplemente gracias por estar ahí.

A la señora K por siempre ser mi cómplice en todo, apoyarme en cualquier proyecto u ocurrencia, por brindarme su compañía, amistad, paciencia, tiempo y cariño. Gracias por existir.

Paúl López

RESUMEN

Los Vibrios y Pseudomonas son microorganismos patógenos comunes en cuerpos de agua

marina, formando parte natural del medio. La cantidad de estos microorganismos puede

variar según el tipo de marea y la fase lunar en la que se encuentre. El presente trabajo se

realizó con el objetivo de analizar la variación temporal de la concentración de Vibrios y

Pseudomonas durante la transición intermareal en el Estero Huaylá, mediante cultivos

microbiológicos para determinar las diferencias en la concentración de bacterias en los

dos estados intermareales.

Se utilizo el agar TCBS para identificar Vibrios y el agar Cetrimide para la identificación

de Pseudomonas, con diluciones de 10-1/10-2. Con los resultados obtenidos se determinó

que en bajamar existió la mayor cantidad de microorganismos Vibrios y Pseudomonas.

La prueba de ANOVA con test de Duncan (p <0,05), se determinó que la carga de Vibrios

en la fase Luna Menguante fue de 942,50 UFC/ml significativamente diferente a las

concentraciones de las otras fases lunares. Sin embargo, los resultados obtenidos en este

estudio indican que durante la Luna Llena se observó una mayor concentración de Vibrios

(762,11 UFC/ml) en comparación con las otras fases lunares. Finalmente, la Luna Nueva

presentó la concentración más alta de *Pseudomonas*, con valores de 3272 UFC/ml.

Palabras claves: Vibrios, Pseudomonas, variación intermareal, ciclo lunar.

4

ABSTRACT

Vibrios and Pseudomonas are common pathogenic microorganisms in marine water

bodies and are a natural part of the environment. The amount of these microorganisms

can vary depending on the type of tide and the lunar phase in which it is found. The

present work was carried out to analyze the temporal variation of the concentration of

Vibrios and Pseudomonas during the intertidal transition in the Estero Huaylá, using

microbiological cultures to determine the differences in the concentration of bacteria in

the two intertidal states.

TCBS agar was used for the identification of Vibrios and Cetrimide agar for the

identification of *Pseudomonas*, with dilutions of 10-1/10-2. With the results obtained, it

was determined that during low tide the greatest number of Vibrioss and Pseudomonas

microorganisms existed. The ANOVA test with Duncan's test (p<0.05) determined that

the Vibrioss load in the Waning Moon phase was 942.50 CFU/ml, significantly different

from the concentrations of the other lunar phases. However, the results obtained in this

study indicate that during the Full Moon, a higher concentration of *Vibrios* (762.11 CFU)

was observed compared to the other lunar phases. Finally, the New Moon presented the

highest concentration of *Pseudomonas*, with values of 3272 CFU.

Keywords: Vibrios, Pseudomonas, intertidal variation, lunar cycle.

5

INDICE

AGRADECIMIENTO	2
DEDICATORIA	3
RESUMEN	4
ABSTRACT	5
CAPITULO I	10
1. INTRODUCCIÓN	10
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
3. JUSTIFICACIÓN	13
4. OBJETIVOS	14
4.1 Objetivo general	14
4.2 Objetivos específicos	14
5. HIPOTESIS	15
CAPITULO II	16
6. REVISION DE LITERARTURA	16
6.1 Estero Huaylá	16
6.2 Topografía del Estero Huaylá	16
6.3 Característica del Estero Huaylá	17
6.4 Contexto Histórico del Estero Huaylá	17
6.4.1 Habitantes	17
6.4.2 Tradición pesquera	17
6.5 Característica de la calidad de agua del Estero Huaylá	18
6.5.1 Parámetros físico-químicos de agua de Estero	18
6.6 Variación intermareal	19
6.6.1 Ciclo de marea	19
6.6.2 Pleamar y Bajamar	20
6.7 Parámetros Biológicos de un estero	21
6.8 Concentración bacteriana de un estuario	23
7. MATERIALES Y METODOS	24
7.1 Materiales, equipos y sustancias	24

7.1.1 Materiales	24
7.1.2 Equipos	24
7.1.3 Sustancias	24
7.2 Métodos	25
7.2.1 Tipo de investigación	25
7.2.2 Ubicación de la investigación	25
7.2.3 Ubicación del área de estudio.	25
7.2.4 Variación de bacterias Heterótrofas, <i>Vibrioss</i> , durante el estado pleamar bajamar.	•
7.2.5 Tomas de muestra de agua	26
7.2.6 Traslado de las muestras recolectadas	26
7.2.7 Preparación de cultivo	27
7.2.8 Preparación de medios de cultivo	27
7.2.9 Siembra en caja Petri	27
7.2.10 Dilución sucesivas de la muestra	27
7.2.11 Parámetros físico-químicos	28
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
8.1 Resultados generales	29
8.1.1 Variación en la concentración de Vibrioss en el Estero Huaylá	31
8.1.2 Variación en la concentración de Pseudomonas en el Estero Huaylá	32
8.2 Parámetros Físico-químicos	34
8.2.1 Temperatura	34
8.2.2 pH	36
8.2.3 Oxigeno	37
8.2.4 Turbidez	38
8.2.5 Salinidad	40
9. DISCUSIÓN	42
CAPITULO V	45
10. CONCLUSIONES	45
11. RECOMENDACIONES	46
CAPITULO VI	47
12. BIBLIOGRAFÍA	47

INDICE DE FIGURAS	
Figura 1 obtenido de Google maps (2023) Ubicación del proyecto -3.259940, -	
79.988394	25
Figura 2 Variación de la concentración de Vibrios durante el muestreo en pleamar y	
bajamar en el estero Huayla	31
Figura 3 Variación de Pseudomonas durante el muestreo en pleamar y bajamar en el	
estero Huayla	33
Figura 4 Fluctuación de la temperatura durante el muestreo en bajamar y pleamar en	el
estero Huayla	35
Figura 5 Concentración de Vibrios en relación a la temperatura	35
Figura 6 Concentración de Pseudomonas en relación con la temperatura	35
Figura 7 Fluctuación del pH durante el muestreo en bajamar y pleamar en el estero	
Huayla	36
Figura 8 Concentración de Vibrios en relación con el pH	36
Figura 9 Concentración de Pseudomonas en relación con el pH	37
Figura 10 Fluctuación del oxígeno durante el muestreo en bajamar y pleamar en el	
estero Huayla	37
Figura 12 Concentración de Vibrios en relación con el oxigeno	38
Figura 13 Concentración de Pseudomonas en relación con el oxigeno	38
Figura 16 fluctuaciones de la turbidez durante el muestreo en bajamar y pleamar en el	1
estero Huayla	39
Figura 14 Concentración de Vibrios en relación con la turbidez	39
Figura 15 Concentración de Pseudomonas en relación con la turbidez	39
Figura 17 Fluctuación de la salinidad durante el muestreo en bajamar y pleamar en el	
estero Huayla	40
Figura 18 Concentración de Vibrios en relación con la Salinidad	40
Figura 19 Concentración de Pseudomonas en relación con la salinidad	40
Figura 20 Recolección de muestras Semana 1	53
Figura 21 Recolección de muestras Semana 2	53
Figura 22 Recolección de muestras Semana 4	53
Figura 23 Recolección de muestras Semana 3	53
Figura 24 Plaqueo microbiológico	53
Figura 25 Recolección de muestras Semana 5	53
Figura 26 Cultivo en placa de Pseudomonas en pleamar (6-11-2023)	53
Figura 27 Cultivo en placa de Pseudomonas en bajamar (6-11-2023)	53
Figura 28 Cultivo en placa de Vibrios	53
Figura 29 Cultivo en placa de Vibrios Bajamar y Pleamar (30-10-23)	53
Figura 30 Cultivo en placa de Vibrios en bajamar (20-11-23)	
Figura 31 Cultivo en placa de Vibrios en pleaamar (20-11-23)	
Figura 32 Cultivo en placa de Vibrios	53
Figura 33 Pleamar en el punto de muestreo	53

Figura 34 Bajamar en el punto de muestreo
INDICE DE TABLAS
Tabla 1 Concentración bacteriana en estuarios de diferentes localidades geográficas23
Tabla 2 Resultados del monitoreo de la concentración microbiana de Vibrios y Pseudomonas
en el estero Huayla entre noviembre - diciembre del 202330
Tabla 3 prueba de rango de comparaciones múltiples de Duncan de la concentración de
Pseudomonas
Tabla 4 prueba de rango de comparaciones múltiples de Duncan de la concentración de Vibrioss

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN

El impacto ecológico que causa la presencia de asentamientos humanos aledaños a ríos, esteros y mares es muy notable, y más aún cuando hay la presencia de industrias de por medio que tratan de beneficiarse del medio natural sin determinar un plan de riesgo para mitigar el daño al ecosistema.

Las grandes masas de agua cercanas a ciudades actualmente se encuentran con un alto grado de contaminación como es el caso del Estero Huaylá, ubicado en la provincia de El Oro, este recibe descargas constantes de aguas rio arriba que vienen cargadas de nutrientes y materiales de desecho ocasionados por industrias como bananeras, minerías y camaroneras. Sin embargo, estas no son las únicas causantes de contaminación, el crecimiento poblacional da como resultado la actividad pesquera, la cual viene acompañada de beneficios para la población, pero un gran perjuicio para el ecosistema marino, ya que los desechos de esta actividad fueron en aumento con el pasar del tiempo lo que desencadeno como un fuerte impacto ambiental.

Un estero esta influenciado por la acción de la marea que ayuda fuertemente a la depuración y resistencia del medio a la contaminación ya existente, este efecto intermareal ayuda a la salida de solidos en suspensión y algunos sedimentos haciendo que la marea los arrastre fuera del área del estero, y durante la crecida esta viene con agua nueva y por acción del golpe del mar viene cargada de oxígeno, factor muy importante al momento de oxidar materia orgánica (Gonzales, Tejeda, & Pilaloa, 2021). En la acuacultura continental del Ecuador, un estero es el recurso que le sirve de abastecimiento de agua para los cultivos acuícolas.

El presente trabajo de investigación contribuye con el conocimiento de la variación bacteriana que puede ocurrir dentro de un estero localizado en la costa del Ecuador, teniendo en cuenta que es un cuerpo de agua con un alto grado de contaminación.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El estero Huaylá es un cuerpo de agua perteneciente a la parroquia Puerto Bolívar el cual es receptor de la pesca artesanal a pequeña escala donde llegan especies marinas ya sean peces, crustáceos y moluscos. La hidrodinámica del estero está sometida a un efecto intermareal, el cual tiene la particularidad de hacer un vaciado parcial del caudal del estero con influencia de la marea.

Las actividades humanas presentes en las orillas del estero Huaylá, podrían generar elevados índices de contaminación. Así mismo, la dinamia intermareal causa el efecto de limpieza trayendo consigo las especies marinas de aguas abiertas. Además, esta dinámica afecta la variación de microorganismos heterótrofos, haciendo que la concentración bacteriana original del estero fluctué.

La dinámica bacteriana varia constantemente por el efecto de varios factores ambientales, por tal razón se requiere tener un mayor conocimiento sobre el ciclo de marea con mayor concentración de bacterias como medida para la protección de este recurso.

3. JUSTIFICACIÓN

La presente investigación se efectúa con la finalidad de conocer la variación de microorganismos como *Vibrios* y *Pseudomonas* presentes en el agua por efecto intermareal y lunar, dando como resultado el conocer qué tipo de marea y que fase lunar tienen mayor carga bacteriana, dentro del área del estero Huaylá, el cual es un cuerpo de agua que está delimitada por varios cultivos acuícolas y otras actividades humanas.

Diversos cultivos acuícolas utilizan el agua del estero para sus actividades de cultivo sin tener conocimiento de sus condiciones físico-químicas y biológicas. Por ejemplo, la carga bacteriana que están ingresando a las piscinas de cultivo, por tal motivo, los resultados de esta investigación ayudarán a tener un mejor panorama del uso del agua en diferentes condiciones intermareales para entender el momento más propicio para hacer un ingreso de agua dentro de las granjas acuícolas aledañas al estero.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Analizar la variación temporal de la concentración de *Vibrios* y *Pseudomonas* durante la transición intermareal en el Estero Huaylá, mediante cultivos microbiológicos para determinar las diferencias en la concentración de bacterias en los dos estados intermareales.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar la concentración microbiana en el agua del estero Huaylá durante los momentos intermareales de pleamar y bajamar
- Determinar la concentración microbiana en los diferentes estados lunares de la pleamar y bajamar en el agua del estero Huaylá.
- Analizar los parámetros físico-químicos en el agua del Estero
 Huaylá durante los momentos intermareales de pleamar y bajamar.

5. HIPOTESIS

La hipótesis que se plantea es que la concentración bacteriana en el estero Huaylá fluctúa significativamente en las diferentes fases intermareales.

CAPITULO II

6. REVISION DE LITERARTURA

6.1 Estero Huaylá

El estero Huaylá se encuentra ubicado en la ciudad de Machala, el cual es una masa de agua en el cual se depositan gran cantidad de residuos contaminantes provenientes de la industria agrícola, cultivo de banano, camaronicultura y efluentes domésticos sin tratamiento, laboratorios de criaderos de larvas y aguas servidas. El estero Huaylá, está siendo afectado por el incremento poblacional, acción intermareal y daños causados por impactos ambientales (González, y otros, 2018).

6.2 Topografía del Estero Huaylá

(González, y otros, 2018) establecen que el estero Huaylá se encuentra situado geográficamente en 3° 15'55" latitud Sur del Ecuador y 80°00'01" longitud Oeste. Localizado hacia el Este del estero Santa Rosa, cerca de la isla Jambelí y a una distancia de 10 minutos de Machala, con una elevación de 3 metros sobre el nivel del mar. Los mismos autores también mencionan que Puerto Bolívar, situado en la ciudad de Machala, es el segundo puerto más importante de Ecuador, a una distancia de millas náuticas de 4.5 desde la boya de mar hasta los puntos de desembarque. Su ubicación privilegiada, le facilita estar a una distancia de 13 millas de las rutas del tráfico mundial. Cuenta con una extensión de aproximadamente 4,24 Km. El ancho vario entre 50 y 94 m y su profundidad aproximada es de 10 metros.

6.3 Característica del Estero Huaylá

Un estero es una formación geográfica que se caracteriza por ser un cuerpo de agua de menor tamaño que un río, el estero Huaylá se rige a esta denominación, pero su característica principal es el estado de contaminación en el que se encuentra, la polución en el estero Huaylá va en aumento con el paso del tiempo, debido a las descargas regulares de aguas residuales procedentes de Machala y Puerto Bolívar. Esta situación se ve agravada por la acción de las corrientes marinas, así como por las circunstancias que resultan de las mareas altas y bajas. Estos factores en conjunto permiten la descomposición de partículas y la aglutinación de sedimentos en el Estero (Montenegro, 2017).

6.4 Contexto Histórico del Estero Huaylá

6.4.1 Habitantes

Según un Censo que fue llevado a cabo en el año 2010 por el Instituto Nacional de Estadísticas y Censo, se determina que Puerto Bolívar cuenta con 245.972 habitantes, de los cuales 11.207 son residentes mujeres y 11.526 hombres. Tiene aproximadamente una extensión de 350 hectáreas (Poma & Cuenca, 2022). La actividad comercial se reemplazó con zonas pesqueras, hoteleras, gastronómicas, las cuales han sido la mayor fuente de ingreso en los últimos años.

6.4.2 Tradición pesquera

Loa autores (Fernandez, Brito, Mendoza, & Villavicencio, 2021) mencionan que la pesca artesanal, en Puerto Bolívar es una actividad que se ha dado desde hace muchos años atrás, la cual fue utilizada como una fuente de subsistencia. Hay oficios que se fueron heredando de generación en generación como la recolección de conchas, la cual ha sido

una tradición muy antigua realizada en el manglar, la actividad ha trascendido durante muchos años. Los mismos autores establecen que cerca del 60% de los pescadores artesanales orenses están ubicados en Puerto, Sin embargo, con la contaminación de la actualidad, las especies del lugar han ido desapareciendo dejando sin fuente de trabajo a diversos pescadores artesanales.

6.5 Característica de la calidad de agua del Estero Huaylá

Según (Rivera, y otros, 2020) los esteros son considerados como una extensión pantanosa de amplio tamaño que regularmente es llenado por agua de la lluvia o por el desbordamiento de un rio. Un gran problema que se da en el Estero es la liberación de aguas sin tratamiento, la cual es vertida en manglares y esteros, convirtiéndose en una problemática ambiental y un peligro hacia los habitantes. Estos mismos investigadores mencionan que el deterioro de la calidad de agua de los Esteros se presenta por diversos factores como crecimiento de la actividad industrial, aumento de la población y cambios ambientales, también se puede mencionar que la carencia de información científica que ayude a la implementación medidas adecuadas para recuperación y sostenibilidad.

6.5.1 Parámetros físico-químicos de agua de Estero

6.5.1.1 Turbidez

La opacidad del agua se origina debido a la presencia de partículas en suspensión, que pueden incluir elementos como arcilla, lodo, materia orgánica e inorgánica finamente dividida, compuestos orgánicos disueltos que poseen color, organismos planctónicos y otros microorganismos (Moresi, 2019).

Según (Marín & Arriojas, 2020), desde el punto de vista de la calidad del agua, una mayor turbidez conlleva un aumento en la temperatura del agua, ya que las partículas

suspendidas absorben más calor. Esto, a su vez, reduce la concentración de oxígeno disuelto (DO), dado que el agua caliente retiene menos DO que el agua fría. Además, una mayor turbidez limita la cantidad de luz que puede penetrar en el agua, lo que disminuye la fotosíntesis y, por ende, la producción de oxígeno.

6.5.1.2 pH

Los esteros tienen un promedio de pH que varía entre 7,29 y 7,66, valores que se encuentran dentro de los límites permitidos, esta medida puede variar según el sitio de la toma o de otros factores ambientales (Osorto, Martinez, & Merlo, 2023).

6.5.1.3 Temperatura

La temperatura desempeña una función significativa en varios procesos que ocurren en el agua en términos de sus propiedades físicas. Un ejemplo notorio es su impacto en la capacidad de disolver sales y oxígeno, elementos esenciales para la vida. Además, a ciertas temperaturas, pueden tener lugar reacciones químicas y bioquímicas (Guadalupe, 2018).

6.5.1.4 Oxígeno disuelto

La cantidad de oxígeno disuelto es un factor crítico que se utiliza para determinar la calidad del agua. (Garcia, 2019).

6.6 Variación intermareal

6.6.1 Ciclo de marea

(Lizano, 2002) menciona que el proceso de alternancia entre pleamar y bajamar, conocido como ciclo de marea, se caracteriza por su regularidad y constancia en las áreas

costeras. Este fenómeno se encuentra influenciado por la interacción gravitatoria ejercida por la Luna y el Sol sobre la Tierra, además de ser modulado por diversos elementos geográficos y oceanográficos de carácter local. El mismo autor afirma que las fuerzas responsables de la generación de las mareas pueden ser representadas como la combinación de componentes armónicos constantes y simples, los cuales están asociados con la posición y órbita de la Luna y el Sol alrededor de la Tierra.

6.6.2 Pleamar y Bajamar

(Zelada, 2020) indican que los dos momentos diarios en que el nivel del agua del mar alcanza su punto más alto en un área costera y el más bajo. Ocurre aproximadamente cada 12 horas en promedio y está asociada con la atracción gravitacional de la Luna y el Sol sobre los océanos de la Tierra. Así mismo, (Gonzalez, Portillo, & Baca, 2022) establecen que el ciclo de las mareas incluye la pleamar (cuando el agua sube) y la bajamar (cuando el agua desciende). La altura de la pleamar y bajamar puede variar según la ubicación geográfica y otros factores, como la topografía del fondo marino y la forma de la costa.

Según (Guachami, 2021), la zona intermareal se distingue por sus constantes y abruptas variaciones, provocadas por el movimiento de las mareas. En contraste, el área cercana a la línea de bajamar experimenta periodos más prolongados de cobertura de agua, lo que la diferencia de la línea de pleamar, que es muy activa y dinámica para la flora y fauna que la habita.

6.7 Parámetros Biológicos de un estero

6.7.1.1 *Vibrios*

Los *Vibrios* son un conjunto de bacterias que pueden servir como un marcador de la calidad del agua, dado que su presencia está condicionada por factores ambientales como la temperatura, la salinidad, la disponibilidad de nutrientes y elementos biológicos (Thompson & Polz, 2006). (Zúniga, Martínez, & Carrasco, 2022) indican que los *Vibrios* han sido asociados con muchos casos de mortalidad en cultivos de peces, crustáceos y moluscos.

En la investigación bibliográfica de (Intriago, 2020), señala que hay más de 100 especies de *Vibrios* en las que resaltan más son los incluyen *V. parahaemolyticus; V. vulnificus; V. alginolyticus; V. cholerae*.

Los esteros son ecosistemas acuáticos que pueden albergar una variedad de microorganismos, incluyendo bacterias del género *Vibrios*. En la investigación de (Quesada, 2020) enlista las bacterias del género *Vibrios* que causan enfermedades directamente relacionadas con el consumo de organismo infectados entre los cuales se tiene; *Vibrios cholerae y Vibrios parahaemolyticus*.

Vibrios cholerae: Esta es una de las especies más conocidas de Vibrios y es el agente causante del cólera, una enfermedad gastrointestinal grave. Aunque el cólera es más común en regiones con condiciones de saneamiento deficientes, Vibrios cholerae puede encontrarse en esteros y áreas costeras (Huamanchumo, 2021).

Vibrios parahaemolyticus: Esta especie de Vibrios se encuentra en agua de mar y esteros y es conocida por causar enfermedades alimentarias cuando se consume mariscos

crudos o mal cocidos contaminados. Puede provocar gastroenteritis aguda (López, Pardío, Flores, Itzcoatl, & Uscanga, 2023).

V. parahaemolyticus están vinculados con las alteraciones físicas, químicas y biológicas del entorno. Por ejemplo, se observa que la cantidad de V. parahaemolyticus aumenta a medida que la temperatura del agua se incrementa (Barrantes, 2023).

Vibrios alginolyticus: Es otra especie de *Vibrios* que se encuentra en ambientes marinos y esteros. Aunque generalmente causa infecciones menos graves que las especies anteriores, puede causar infecciones de oído y heridas (González & Bravo, 2020).

6.7.1.3 Pseudomonas

(Pinzón, 2019) plantea que las bacterias que forman parte del género *Pseudomonas* se encuentran en diversos ambientes acuáticos, incluidos los estuarios. Esta bacteria es conocida por que se adaptan a cualquier ambiente, lo que le permite desarrollarse en una variedad de condiciones ambientales. El nombre que se le da al género de bacilos aerobios de la familia *Pseudomonadaceae*, es *Pseudomonas*, poseen flagelos polares y no son formadoras de esporas.

Posee flagelos polares los cuales permiten el movimiento en líquido. Tiene un pigmento característico fluorescente, es este el que permite que reaccione frente a la luz ultravioleta, sin embargo, en diversas ocasiones no fluorece cuando el cultivo tiene poco tiempo de haberse realizado (Pérez, Coto, Echemendía, & Ávila, 2015).

Según (Fernández, 2018), afirma que existen diversas especies de *Pseudomonas* como *Pseudomonas aeruginosa*, la cual es una especie que se encuentra en varios hábitats acuáticos, es una especie que se caracteriza debido a que posee la capacidad de adaptarse en ambientes hostiles.

Los cultivos de colonias de *Pseudomonas aeruginosa* se representan por un color característico azul verdoso, el cual se debe a su producción de pigmentos fluorescentes, como la piocianina, este tiene un color azulado y la pioverdina, el cual se caracteriza por un color amarillo verdoso, también la piomelanina, de colores marrón negruzco y piorrubina color rojizo (Catalan, 2023).

(Weimer, Kohlstedt, Volke, Nikel, & Wittmann, 2020) plantean que *Pseudomonas putida* es una bacteria Gram negativa con forma de bastón, frecuentemente aislada del agua, plantas y suelos. Se conoce por ser de carácter oportunista. y capacidades nutricionales poco exigentes, crecimiento rápido, como, así como robustez a los desafíos con estrés oxidativo y químicos tóxicos.

6.8 Concentración bacteriana de un estuario

Tipo de bacteria	Concentración UFC/ml	Lugar	Fuente bibliográfica			
Bacterias heterótrofas	91000	El Salvador	(Quintanilla A., 2020)			
Vibrios	200	Machala	(Bustamante, 2022)			
Pseudomonas	750	El Sal4vador	(Quintanilla & Castro, 2022)			

Tabla 1 Concentración bacteriana en estuarios de diferentes localidades geográficas

CAPITULO III

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 Materiales, equipos y sustancias

7.1.1 Materiales

- Cajas Petri
- Tubos de ensayo
- Botellas plásticas
- Vaso de precipitación
- Micropipeta
- Hielera
- **7.1.2 Equipos**
- Autoclave
- Incubadora
- Microondas
- 7.1.3 Sustancias
- Agar TCBS
- Agar cetrimide
- Agua del estero Huaylá
- Glicerol
- Alcohol

- Compresas de gel frías
- Mechero
- Gramera
- Jeringas
- Azas

7.2 Métodos

7.2.1 Tipo de investigación

Investigación experimental cuantitativa, en donde se analizaron la variación bacteriana en relación con el efecto intermareal para determinar en qué tipo de marea se presenta una mayor concentración de bacterias. Se analizaron parámetros físico-químicos (pH, temperatura, turbidez) y parámetros biológicos (*Vibrios y Pseudomonas*) de las muestras tomadas del estero Huaylá.

7.2.2 Ubicación de la investigación

La investigación fue realizada en el laboratorio de sanidad vegetal, el cual se encuentra ubicado en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala.

7.2.3 Ubicación del área de estudio

La investigación fue realizada en un punto del estero Huaylá cerca al Yacht Club de Puerto Bolívar, rodeada de una bahía comercial de insumos acuícolas y de pesquería.



Figura 1 obtenido de Google maps (2023) Ubicación del proyecto -3.259940, -79.988394

Punto 1: P1

7.2.4 Variación de bacterias Heterótrofas, *Vibrios*, durante el estado pleamar y bajamar.

Para saber la variación de bacterias heterótrofas, *Vibrios y Pseudomonas* se tomaron muestras en el estero Huaylá durante el ciclo de marea en los meses de noviembre y diciembre del 2023, se tomarán muestras cada 4 días, las cuales fueron llevadas a las instalaciones de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (FCA) en donde se realizaron cultivos microbiológicos mediante la técnica de siembra en placa utilizando agar TCBS para *Vibrios* y agar CETRIMIDE para *Pseudomonas*, para realizar la identificación de microorganismos, clasificarlos y cuantificarlos.

7.2.5 Tomas de muestra de agua

Las muestras fueron recolectadas del Estero Huaylá en un punto específico, a las 06:00 AM, y 12:00 PM a una profundidad de 40 cm y almacenadas en botellas plásticas de 100 ml.

7.2.6 Traslado de las muestras recolectadas

Las muestras recolectadas en Puerto Bolívar en el muelle "CARLIN" fueron llevadas inmediatamente al laboratorio de sanidad vegetal de la FCA, para la siembra en placa, el tiempo que duro el traslado fue de 15 minutos desde el punto de recolección al laboratorio.

7.2.7 Preparación de cultivo

En el laboratorio las muestras fueron colocadas en un vaso de precipitación, mientras que a la vez se prepararon los implementos que se utilizaron para que la siembra ya esterilizados.

7.2.8 Preparación de medios de cultivo

Para el agar TCBS se utilizó la relación de 89.1 gramos de agar por cada litro de agua, la cantidad preparada fue de 13.36 gr en 150 ml de agua destilada para la preparación de 14 placas mono Petri de plástico.

Para el agar Cetrimide se utilizó una relación de 46,7 gramos por cada litro de agua, la cantidad preparada fue de 7 gr de agar para 150 ml de agua destilada y 10 ml de glicerol para 1000 ml de la misma agua, por ello, se utilizó 1 ml de glicerol. Este agar requiere esterilización en autoclave a 121 °, durante 15m, luego de enfriar se colocó en 14 placas mono Petri de plástico.

7.2.9 Siembra en caja Petri

Una vez preparado el agar, se colocó 10 ml dentro de cada placa para formar una delgada película en el fondo de la caja Petri, se esperará un tiempo de 20 minutos para que se solidifique el agar y esté listo para aplicarle la muestra a estudiar por medio de un rayado.

7.2.10 Dilución sucesivas de la muestra

Se aplicaron disoluciones de la muestra original hasta 1:10 y 1:100 para bajar la concentración teniendo una mejor visión cuantitativa de bacterias presentes.

7.2.11 Parámetros físico-químicos

• Temperatura y Oxigeno

Se realizaron mediciones directas de temperatura y oxígeno en el Estero Huaylá utilizando un oxígenometro. Después de encender el equipo, se llevó a cabo una calibración utilizando agua esterilizada. Posteriormente, se registró una salinidad cercana a los 30 UPS, se sumergió la sonda en el agua y se esperó a que los valores se estabilizaran.

pH

Para la toma de pH se utilizó un pHmetro. Los valores que brindan fluctúan en una escala que abarca de 0 a 14, donde 0 denota alta acidez, 7 indica neutralidad, y 14 representa una elevada alcalinidad. Se encendió el pHmetro y se procedió a calibrarlo lo cual es fundamental previo a su utilización, se colocó una muestra en un vaso y se procedió a tomar el pH.

• Salinidad

Para la toma de salinidad, se colocó una muestra en un vaso y se calibró el equipo con agua destilada, luego se lo sumergió en la muestra, se esperó que los valores se estabilicen y luego se volvió a calibrar para guardar el equipo.

• Turbidez

Para la toma de la turbidez se utilizó un disco secchi elaborado en casa de manera artesanal, el cual en la soga tenía una distancia de 40cm entre nudos con un disco de madera pintado de blanco y negro.

CAPITULO IV

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Resultados generales

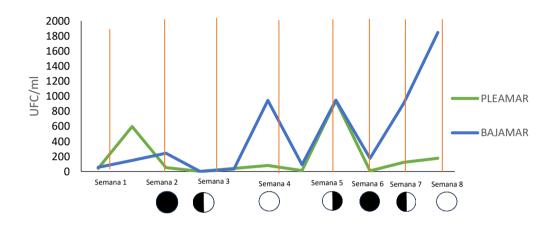
La (tabla 1) muestra los resultados generales del estudio en el estero Huaylá. Se muestra resultados de 22 muestras totales obtenidas durante el monitoreo de *Vibrios* y *Pseudomonas* en 8 semanas de trabajo de campo entre noviembre y diciembre del 2023 en un total de 11 días de muestreo. Durante el mes de noviembre del 2023, se realizaron 7 muestreos en los que cada semana se visitó dos ocasiones el sitio para la obtención de muestras. En cada día ocurrieron dos muestreos uno para pleamar y otro para bajamar. En diciembre 2023, se realizaron 4 muestreos en cuatro semanas sucesivas para realizar un seguimiento de las fases de Luna Llena y nueva. Adicionalmente el cuadro muestra los resultados de los principales parámetros abióticos.

Semanas	Dia / fecha	HORA	MAREA	Estado lunar	VIBRIOS UFC/ml	PSEUDOMONAS UFC/ml	Temperatura (°C)	Salinidad(UPS)	PH	Oxigeno (mg/L)	Turbidez (cm)
Semana 1	Lunes 06/11	6:00 a. m.	Bajamar	Normal	55	968	26,5	27,63	7,41	5,91	52
		12:00 p. m.	Pleamar		41,67	26,67	27,1	28,61	7,56	7,11	72
	Jueves 09/11	6:00 a.m.	Bajamar	Normal	148,33	513	27,2	27,5	7,44	6,17	51
		12:00 p. m.	Pleamar		596,67	323,33	26,4	28,64	7,61	6,25	55
Semana 2	Lunes 13/11	6:00 a. m.	Bajamar	Aguaje (Luna Nueva)	243,33	1318,3	28,1	27,62	7,31	6,21	57
		12:00 p. m.	Pleamar		51,67	68,33	27,7	28,63	7,43	7,34	66
	Lunes 20/11	6:00 a. m.	Pleamar	Luna creciente	1,67	61,67	27,1	27,62	7,11	6,05	62
Semana 3		12:00 p. m.	Bajamar		0	0	28,2	28,63	7,46	7,01	57
	Jueves 23/11	6:00 a. m.	Bajamar	Normal	35	665	27,4	27,64	7,33	6,5	50
		12:00 p. m.	Pleamar		41,67	926,67	26,5	28,63	7,56	6,11	55
	Lunes 27/11	6:00 a. m.	Pleamar	Aguaje (Luna llena)	80	8,33	26,1	28,59	7,67	7	61
Semana 4		12:00 p. m.	Bajamar		945	46,67	27,2	27,64	7,59	6,1	57
Scillalia 4	Jueves 30/11	6:00 a. m.	Pleamar	Normal	13,33	183,33	26,7	27,61	7,44	7,06	55
		12:00 p. m.	Bajamar		91,67	86,67	28,6	28,67	7,28	6,55	53
Samana 5	Martes 05/12	6:00 a. m.	Pleamar	Luna menguante	938,33	1180	23,5	28,61	7,51	6,17	66
Sellidiid S		12:00 p. m.	Bajamar		946,67	1668,33	23,9	28,64	7,59	6,25	52
Comana 6	Martes 12/12	6:00 a. m.	Pleamar	Aguaje (Luna nueva)	10	3866,67	24,12	28,66	7,56	6,21	59
Semana 6		12:00 p. m.	Bajamar		176,77	7835	24,61	28,63	7,24	7,34	51
Semana 7	Martes 19/12	6:00 a. m.	Bajamar	Luna creciente	908,33	46,67	25,2	28,61	7,28	6,05	49
		12:00 p. m.	Pleamar		121,67	0	24,8	28,68	7,21	7,01	57
	1. 1	6:00 a m	Pleamar		176 77	n (ibrios y Psaudomo	24 ₹	28 5	7 11	7	52

Tabla 2 Resultados del monitoreo de la concentración microbiana de Vibrios y Pseudomonas en el estero Huayla entre noviembre - diciembre - del 2023

8.1.1 Variación en la concentración de Vibrios en el Estero Huaylá

La Figura No 2, muestra la concentración de *Vibrios* durante el muestreo en el Estero Huaylá. En el eje de las X se el número de muestreos entre noviembre y diciembre del 2023 y en el eje Y la concentración de bacterias.



Numero de muestreos

Figura 2 Variación de la concentración de Vibrios durante el muestreo en pleamar y bajamar en el estero Huayla

La concentración de *Vibrios* en bajamar durante la primera semana alcanzó 596,7 UFC/ml, pero de manera inmediata en la semana dos descendió a 51,67 UFC/ml, en la semana 3 ocurrió un declive y posterior aumento de la concentración bacteriana. Así mismo, en la semana 4 ocurrió un descenso, que se mantuvo hasta la semana 5 la cual coincidió con el estado de Luna Menguante se vio un incremento drástico en comparación a la semana anterior, semana 6 decreció a 176,8 UFC/ml, en semana 7 aumentó levemente y en la semana 8 volvió a aumentar.

Se observa que la concentración de *Vibrios* en pleamar fue de $55 \pm 148,3$ UFC/ml en la primera semana, posteriormente en la semana 2 incrementó a 243,4 UFC/ml, se observa que en

la semana 3 existió un descenso brusco, obteniendo 0 ± 35 UFC/ml, en la semana 4 incrementó de manera exponencial el primer muestreo de la semana a 945 UFC/ml, y descendió en el segundo muestro a 91,67 UFC/ml, en la semana 5 se evidencio un incremento a 946,7 UFC/ml y posteriormente se observa un descenso a 176,8 UFC/ml en la semana 6. Finalmente se evidencia un incremento en los muestreos realizados en las semanas subsiguientes.

La figura No 2, muestra también las fases lunares durante el presente estudio, demostrando que el estado lunar influye en la concentración de *Vibrios* dentro de aguas estuarinas. El tiempo de muestreo del presente estudio tuvo dos eventos de Luna Llena clara, dos eventos de Luna Llena obscura, dos eventos de Luna Creciente y un evento de Luna Menguante.

El análisis estadístico (p< 0,05) demostró que existen dos grupos bien diferenciados. El grupo uno compuesto por la Luna Nueva Luna Creciente y normal (no luna), el grupo dos está conformadas por Luna Menguante, y la Luna Llena es estadísticamente similar (p< 0,05) entre el grupo A y el grupo B. Sin embargo, es importante considerar que estos resultan de 11 muestreos, por tanto, se requiere un monitoreo más constante para identificar con mayor claridad estos resultados estadísticos.

8.1.2 Variación en la concentración de Pseudomonas en el Estero Huaylá

La figura No 3, muestra la concentración de *Pseudomonas* durante el muestreo en el Estero Huaylá. En el eje de las X se observa el número de muestreos entre noviembre y diciembre del 2023 y en el eje Y la concentración de bacterias

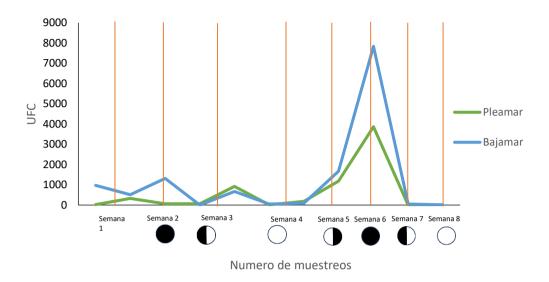


Figura 3 Variación de Pseudomonas durante el muestreo en pleamar y bajamar en el estero Huayla

La concentración de *Pseudomonas* en bajamar se observa que la primera semana (1-2) alcanzó 968 ± 513 UFC/ml, pero de manera inmediata en la semana dos (3) incrementó a 1318,3 UFC/ml, en la semana 3 (4-5) ocurrió un declive y posterior aumento de la concentración bacteriana. Así mismo, en la semana 4 (6-7) aumentó levemente, la semana 5 (8) la cual estaba intervenida por Luna Menguante se vio un incremento drástico en comparación a la semana anterior, semana 6 (9) se incrementó a 7835 UFC/ml, en la semana 7 (10) disminuyó considerablemente a 46,67 UFC/ml y en semana 8 (11) nuevamente disminuyó.

Se observa que la concentración de *Pseudomonas* en pleamar fue de $26,67 \pm 323,33$ UFC/ml en la primera semana (1-2), posteriormente en la semana 2 (3) descendió a 1318,3 UFC/ml, se observa que en la semana 3 (4-5) existió un incremento, obteniendo $61,67 \pm 926,67$ UFC/ml, en la semana 4 (6-7) disminuyó a 8,33 durante el primer muestreo de la semana, y se incrementó levemente en el segundo muestro a 183,33 UFC/ml, en la semana 5 y 6 (8-9) se evidenció un incremento exponencial de 1180 y 3866,7 UFC/ml respectivamente, y

posteriormente se observa un descenso bruscos a 0 UFC/ml en los muestreos realizados en las semanas subsiguientes.

La figura No 3, muestra también las fases lunares durante el presente estudio, demostrando que el estado lunar influye en concentración de *Vibrios* dentro de aguas estuarinas. El tiempo de muestreo del presente estudio tuvo dos eventos de Luna Llena clara, dos eventos de Luna Llena obscura, dos eventos de Luna Creciente y un evento de Luna Menguante.

En la Figura No 3 se expresa que la marea con mayor concentración de microorganismos es la bajamar, pero los picos de concentraciones de microorganismos son muy distintos a la gráfica de *Vibrios*, este efecto se debe a que las *Pseudomonas* son antagónicas con los *Vibrios* dando como resultado la variación inversa de datos de la Figura No 3 teniendo un pico muy superior en la semana 5, y teniendo un declive muy abrupto en la semana 6, opuesto a los grafica de *Vibrios*.

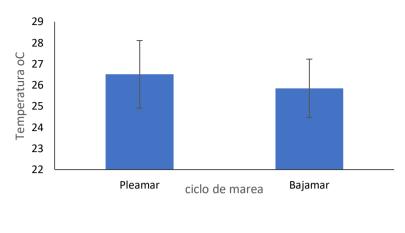
El análisis estadístico (p<0,05) demostró que existen dos grupos bien diferenciados. El grupo uno compuesto por la Luna Llena, Luna Creciente y normal (no luna), el grupo dos está conformadas por Luna Nueva, y la Luna Menguante es estadísticamente similar entre el grupo A y el grupo B. Sin embargo, se es importante considerar que estos resultan de 11 muestreos, por tanto, se requiere un monitoreo más constante para identificar con mayor claridad estos resultados estadísticos.

8.2 Parámetros Físico-químicos

8.2.1 Temperatura

En la Figura No 4 la fluctuación de la temperatura durante el muestreo en pleamar y bajamar en el estero Huaylá va desde 26,1 a 27,7 de 26,5 a 28,6 respectivamente. No existe una diferencia significativa.

Figura 4 Fluctuación de la temperatura durante el muestreo en bajamar y pleamar en el estero Huayla



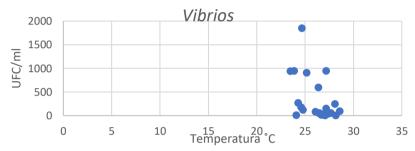


Figura 5 Concentración de Vibrios en relación a la temperatura

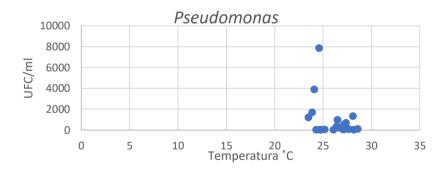


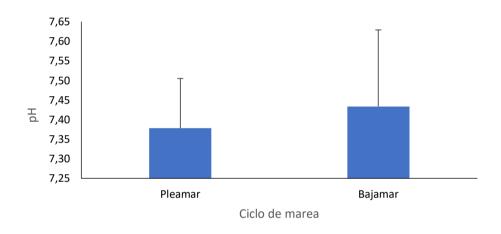
Figura 6 Concentración de Pseudomonas en relación con la temperatura

En la gráfica se pudo observar que hay una concentración máxima de *Vibrios* de 1846,66 UFC/ml a una temperatura de 24,7 °C, a una temperatura de 28,2 no se encontró la presencia de *Vibrios* dentro del estudio. En *Pseudomonas* la concentración máxima fue de 3866,67 a una temperatura de 24,2 °C, no se detectó *Pseudomonas* a una temperatura de 28,2 °C.

8.2.2 pH

En la Figura No 5 se detecta la fluctuación de pH durante el muestreo en pleamar y bajamar en el estero Huaylá se vio afectado directamente por la temperatura y salinidad, como se observa en la fecha 20 de noviembre en la cual en baja mar se vio una variación brusca de pH en comparación con las muestras siguientes.

Figura 7 Fluctuación del pH durante el muestreo en bajamar y pleamar en el estero Huayla



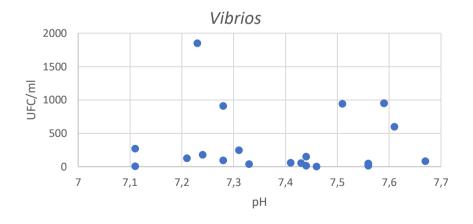


Figura 8 Concentración de Vibrios en relación con el pH

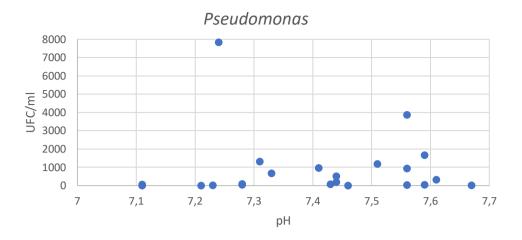


Figura 9 Concentración de Pseudomonas en relación con el pH

En la gráfica se pudo observar que hay una concentración máxima de *Vibrios* de 1846,66 UFC/ml a un pH de 7,23, a una pH de 7,46 no se encontró la presencia de *Vibrios* dentro del estudio. En *Pseudomonas* la concentración máxima fue de 3866,67 a pH de 7,56, no se detectó *Pseudomonas* en un rango de pH de 7,11 a 7,21.

8.2.3 Oxigeno

En la Figura No 6, se observa que la fluctuación de la oxigeno durante el muestreo en pleamar y bajamar en el estero Huaylá es mínimo dando un valor promedio en pleamar de 6,7 mg/L y en bajamar de 6,35 mg/L

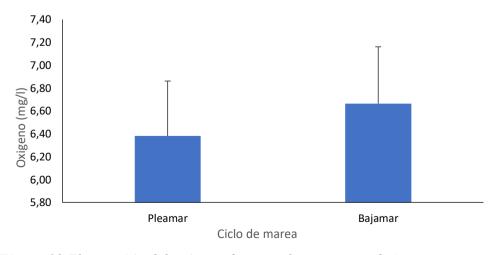


Figura 10 Fluctuación del oxígeno durante el muestreo en bajamar y pleamar en el estero Huayla

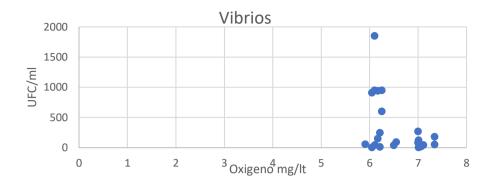


Figura 11 Concentración de Vibrios en relación con el oxigeno



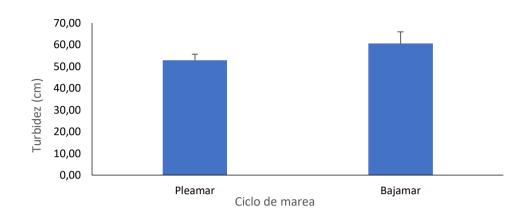
Figura 12 Concentración de Pseudomonas en relación con el oxigeno

En la gráfica se pudo observar que hay una concentración máxima de *Vibrios* de 1846,66 UFC/ml a una concentración de oxígeno de 6,1 mg/la, a una concentración de oxígeno de 7,01 mg/lt no se encontró la presencia de *Vibrios* dentro del estudio. En *Pseudomonas* la concentración máxima fue de 3866,67UFC/ml a una concentración de oxígeno de 6,21 mg/lt, no se detectó *Pseudomonas* a una concentración de oxígeno de 7,00 mg/lt.

8.2.4 Turbidez

En la Figura No 7, se aprecia una ligera fluctuación en la temperatura durante el muestreo pleamar y bajamar en el estero Huaylá. En pleamar, se registró una mayor turbidez en comparación con bajamar, principalmente debido a la presencia de sólidos en suspensión, barro y fitoplancton en menor cantidad.

Figura 13 fluctuaciones de la turbidez durante el muestreo en bajamar y pleamar en el estero Huayla



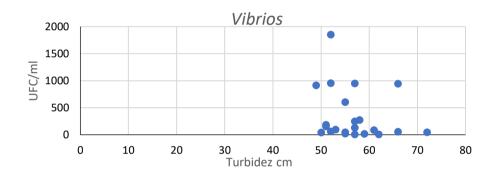


Figura 14 Concentración de Vibrios en relación con la turbidez

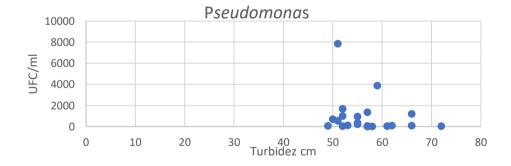


Figura 15 Concentración de Pseudomonas en relación con la turbidez

En la gráfica se pudo observar que hay una concentración máxima de *Vibrios* de 1846,66 UFC/ml a una turbidez de 52 cm, a una turbidez de 57cm no se encontró la presencia de *Vibrios* dentro del estudio. En *Pseudomonas* la concentración máxima fue de 3866,67 UFC/ml a una turbidez de 59 cm, no se detectó *Pseudomonas* a una turbidez de 58 cm.

8.2.5 Salinidad

En la Figura No 8, se observa una fluctuación de la salinidad durante el muestreo de pleamar y bajamar en el estero Huaylá se da debido a que en el mes de noviembre se presentaron lluvias pasajeras que alteraban la proporción de agua dulce y salada por lo que se observó fluctuaciones en este parámetro.

Figura 16 Fluctuación de la salinidad durante el muestreo en bajamar y pleamar en el estero Huayla

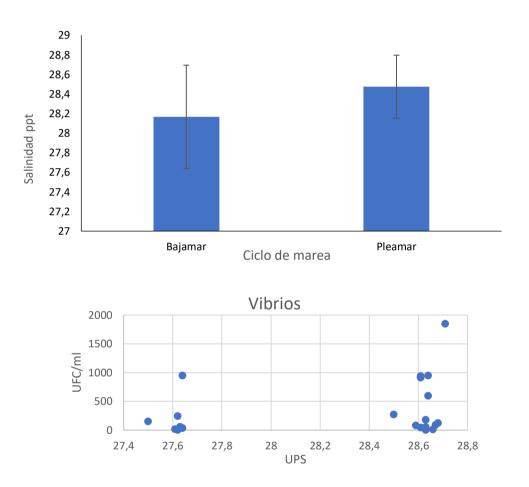


Figura 17 Concentración de Vibrios en relación con la Salinidad

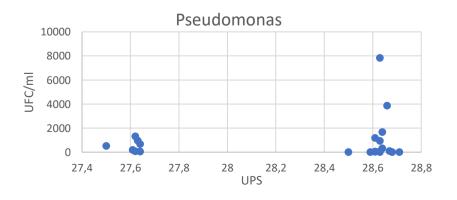


Figura 18 Concentración de Pseudomonas en relación con la salinidad

En la gráfica se pudo observar que hay una concentración máxima de *Vibrios* de 1846,66 UFC/ml a una salinidad de 28,71 UPS, a una salinidad de 28,63 UPS no se encontró la presencia de *Vibrios* dentro del estudio. En *Pseudomonas* la concentración máxima fue de 3866,67 UFC/ml a una salinidad de 28,66 UPS, no se detectó *Pseudomonas* a una salinidad de 28,5 UPS.

9. DISCUSIÓN

El presente estudio analizó la concentración de *Vibrio sp* y *Pseudomonas sp* en el agua del estero Hualya de la ciudad de Machala, provincia de El Oro durante los dos últimos meses, noviembre y diciembre del 2023. Los resultados encontrados contrastan con los obtenidos en cuanto a *Vibrios* (339.55UFC/ml), en otras regiones similares a las del estero Huaylá. Por ejemplo, el trabajo de (Bustamante, 2022), sobre la contaminación por lixiviados en el Estero Casa Camarón mostró concentraciones de *Vibrios sp* de 100 y 200 UFC/ml, valores significativamente inferiores a los encontrados en el estero Huaylá. Esto sugiere que la contaminación en el Estero Casa Camarón es menor que en el estero Huaylá, posiblemente debido a diferencias en la fuente y el tipo de contaminantes.

En contraste, en el estudio de (Cordoba, Espinosa, & Vivas, 2022), en la Ciénaga Grande de Santa Marta, se encontró una relación entre la temperatura, la salinidad y la cantidad de *Vibrios* presentes. Aunque las concentraciones de bacterias fueron altas (50,6 - 154,6 UFC/100 ml) en noviembre de 2017 y enero de 2018 respectivamente, fueron inferiores a las obtenidas dentro de este estudio realizado en el estero Huaylá en Machala, donde se registró un promedio de 339,55 UFC/ml de *Vibrio sp.* Esta diferencia podría atribuirse a variaciones en las condiciones ambientales y las actividades humanas en cada zona, lo que destaca la importancia de considerar múltiples factores en los estudios de calidad del agua. Los mismos autores, establecen que en cuanto a *Vibrios* la salinidad influye en la proliferación de *V. cholerae* ya que esta aumenta su concentración cuando la salinidad baja, esto ocurre en épocas frías donde hay mayor presencia de lluvias. En los resultados obtenidos de parámetros físico-químicos en el estero Huaylá se pudo observar el aumento y descenso de la salinidad del agua por el efecto de las lluvias que se producían en horas de la mañana, sin embargo, los resultados no muestran una relación positiva entre la salinidad y la concentración de *Vibrios*.

Por otro lado, (Quintanilla & Castro, 2022), encontraron una concentración de *Pseudomonas* de 281 UFC/ml en un estudio en el Golfo de Fonseca y el Estero El Chapernal, mientras que en el estudio realizado en el estero Huaylá se obtuvieron resultados de 900,12 UFC/ml. Esta diferencia podría ser influenciada por diversos factores ambientales y humanos. Los mismos autores también establecieron que la temperatura ideal para el crecimiento bacteriológico de los *Vibrios* tiene que ser superior a los 17 °C, pero en el presente estudio, las temperaturas fluctuaron entre 23 a 28 g C., sin haberse encontrado relación entre la temperatura y la concentración de Vibrio.

En la región costera del Ecuador durante el día se sucede dos estados intermareales bien definidos, comúnmente denominados pleamar y bajamar. La pleamar es el estado de más altitud, es decir esta influenciado por abundante presencia de agua en las costas; en cambio, la bajamar es de menor altitud y se sucede en el momento en el cual el agua se aleja de las costas, muchas veces dejando percibir las zonas de sedimentación en sitios o áreas muy bajas. Esto permite entender que podría estar ocurriendo un efecto de Re suspensión de sedimentos en momentos en los que sube la marea con alta intensidad. A demás hay que considerar el alto trafico con motor fuera de borda en el estero, lo cual podría tener incidencia en el aumento de la concentración de bacterias en pleamar, pero que no fue objeto de estudio en este trabajo.

la batimetría del lugar de estudio hace posible la rápida propagación de ciertos microorganismos como los *Vibrios* y *Pseudomonas* ayudadas con los efectos mareales. Por ejemplo, en bajamar se levantan solidos disueltos depositados en el fondo del estuario y se podría suponer que estos microorganismos se adhieren a estos sedimentos teniendo un lugar de óptimo de crecimiento para su fácil reproducción con las condiciones climáticas propias del lugar.

Por otro lado, el estado intermareal recibe influencia de la fase lunares como Luna Llena, Luna Menguante y Luna Creciente. Respecto a las diferentes fases lunares, los resultados encontrados en esta investigación demostraron que las *Pseudomonas* tienen una mejor proliferación en Luna Nueva, efecto que podría ocurrir por la acción gravitatoria potenciada en el mar, trayendo consigo una mayor masa de agua oxigenada y una variedad de microorganismos que en conjunto con las condiciones climáticas contribuyen a aumentar la concentración de microorganismos en este caso del género *Pseudomonas*.

CAPITULO V

10. CONCLUSIONES

Del muestreo realizado entre noviembre y diciembre 2023, se puede concluir que la mayor cantidad de *Vibrios sp*, y *Pseudomonas* presentes fue en bajamar. En pleamar la concentración de bacterias fue menor.

A pesar de que en el estero predominan ligeras fluctuaciones de algunos parámetros abióticos, se noto que no existen relaciones significativas entre los parámetros oxígeno disuelto, salinidad, turbidez y temperatura, con la concentración de *Vibrios* y *Pseudomonas*.

La concentración de bacterias para *Pseudomonas* y *Vibrios* fue diferente en pleamar y bajamar. Para *Vibrio sp*, la concentración de bacterias en bajamar fue de aproximadamente tres veces más a la de pleamar. Así mismo la concentración de *Pseudomonas* se registró aproximadamente el doble de concentración en baja mar comparativamente a la pleamar.

Aunque de este estudio se registraron pocos datos en diferentes fases lunares, es posible describir la tendencia de la concentración de microrganismos respecto a la presencia de luna nueva y llena. Las fases lunares influyen mucho con respecto a la cantidad de microorganismos. Cuando existe Luna Llena, la concentración de *vibrio sp* fue significativamente superior comparada con Luna Menguante y creciente. El comportamiento de la concentración *Pseudomonas* en el agua del estero Huaylá resulto inverso a lo ocurrido con *Vibrio sp* y la fase lunar, es decir fue menor en luna llena y mayor en luna nueva. Es probable que las concentraciones de bacterias este influenciada por la fase lunar que en si tiene incidencia en la fuerza intermareal sea pleamar o bajamar.

11. RECOMENDACIONES

- Se debe someter en frio las muestras para asegurar la preservación de los microorganismos.
- Se recomienda realizar un muestreo en más de un punto, para poder tener un conocimiento más exacto sobre las concentraciones bacterianas presentes en el lugar.

CAPITULO VI

12. BIBLIOGRAFÍA

- Barrantes, E. B. (2023). Efectos de la bacteria patógena Vibrio parahaemolyticus en camarones (Litopenaeus vannamei) de cultivo y en la salud del consumidor. *Dialnet*, *23*(40). Obtenido de Efectos de la bacteria patógena Vibrio parahaemolyticus en camarones (Litopenaeus vannamei) de cultivo y en la salud del consumidor: https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9133676
- Bustamante, C. (2022). Evaluacion de la contaminacion del estero casa camaron generada por lixiviados del relleno sanitario de Machala El Oro Ecuador. *Unp.* Obtenido de Universidad Nacional de Piura: https://repositorio.unp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12676/4160/IASIN-BUS-SIL-2022.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Catalan, M. (2023). Caracterización y efecto protector de proteínas lea de pseudomonas obtenidas del golfo de México. *Uaem*. Obtenido de http://www.riaa.uaem.mx/xmlui/bitstream/handle/20.500.12055/3721/CAJMCR03.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Cordoba, T., Espinosa, L., & Vivas, L. (2022). Occurrence and distribution of cultivable Vibrio cholerae in Ciénaga Grande De Santa Marta, Colombian Caribbean. Obtenido de Universidad Nacional de Colombia: https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/92057/82163
- Fernandez, C., Brito, P., Mendoza, G., & Villavicencio, C. (2021). Tradición pesquera artesanal e identidad sociocultural de Puerto Bolívar: Contexto del Golfo de Guayaquil-Ecuador. *Dialnet*, 27(2), 386-400. Obtenido de Dialnet: https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7927672
- Fernández, M. (2018). *Epidemiología molecular de pseudomonas aeruginosa mediante la técnica double-locus sequence typing (dlst)*. Tesis de grado. Obtenido de http://dspace.umh.es/bitstream/11000/8586/1/Fern%c3%a1ndez%20S%c3%a1nchez%2c%20Mireya.pdf
- Garcia, D. (2019). Modelización de la calidad del agua del estero Guayjì, Cantón Quevedo, Provincia De Los Ríos, Año 2018-2019. *Uteq*. Obtenido de

- https://repositorio.uteq.edu.ec/server/api/core/bitstreams/ce989aed-688b-4c43-b052-d436975d07af/content
- Gonzales, V., Tejeda, L., & Pilaloa, J. (2021). Evaluación toxicológica de los sedimentos marinos del estero Huaylá, usando como bioindicador al nematodo C. elegans. *Dialnet*, *14*(1), 61-69. Obtenido de https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8397291
- Gonzalez, D., Portillo, F., & Baca, L. (2022). Primera fase para el incremento de ictiofauna en el Golfo de Fonseca utilizando arrecifes artificiales. *Revista Universidad y Sociedad,* 14(6). Obtenido de Scielo: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2218-36202022000600530&script=sci_arttext&tlng=en
- González, N., & Bravo, A. (2020). Identificación de Vibrio spp y otras bacterias en pescados procedentes de las comunidades Poneloya, Las Peñitas, Jiquilillo y El Tránsito, septiembre-octubre 2019. *UnanLeon*. Obtenido de Universidad Nacional Autónoma De Nicaragua León: http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/8172/1/245067.pdf
- González, V., Valle, S., Nirchio, M., Olivero, J., Tejeda, L., Valdelamar, J., . . . González, K. (2018). Evaluación del riesgo de contaminación por metales pesados (Hg y Pb) en sedimentos marinos del Estero Huaylá, Puerto Bolívar, Ecuador. *UNMSM*, 21(41). Obtenido de https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/iigeo/article/view/14995/13057
- Guachami, J. (2021). Estado del conocimiento de los macroinvertebrados bentónicos en la zona intermareal de la provincia de Santa Elena revisión bibliográfica 2000-2019. *UPSE*. Obtenido de UPSE: https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/6618
- Guadalupe, A. (2018). Biodiversidad en las aguas del Iberá. *UNNE*. Obtenido de Universidad Nacional del Nordeste: https://repositorio.unne.edu.ar/bitstream/handle/123456789/28219/RIUNNE_FACEN A_CL_Poi-Neiff-Casco.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Huamanchumo, F. (2021). Aislamiento e identificación de Vibrio cholerae y otras especies de vibrios halofílicos patógenos a partir de varios reservorios acuáticos naturales en la zona de la bocana del río Lurín. *Urp*. Obtenido de Universidad Ricardo Palma: https://repositorio.urp.edu.pe/handle/20.500.14138/3940

- Intriago, D. (2020). Prevalencia de Vibrios patogenos en camaron de comercio minorista en mercados del canton Manta. *Espam*. Obtenido de https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1345/1/TTMAI03D.pdf
- Lizano, O. (2002). Algunas características de las mareas en la costa pacífica y caribe de centroamérica. *Revista de Ciencia y Tecnología*, 24(1). Obtenido de https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/cienciaytecnologia/article/view/2654/2605
- López, K., Pardío, V., Flores, A., Itzcoatl, D., & Uscanga, R. (2023). Estimación del riesgo microbiológico asociado al consumo de ostión crudo contaminado con Vibrios cholerae y Vibrios parahaemolyticus. *Biotecnia*, 25(1). Obtenido de Scielo: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1665-14562023000100005&script=sci_arttext
- Marín, T., & Arriojas, D. (2020). Eliminación de turbidez del agua mediante filtración utilizando cáscaras de coco a nivel de laboratorio. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-100X2020000200099&script=sci_arttext#ref1
- Montenegro, D. (2017). Medidas preventivas para la utilización del agua. *UTMACH*. Obtenido de

 Utmach:

 http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/10513/1/DE00003_EXAMENCO

 MPLEXIVO.pdf
- Moresi, A. (2019). Caracterización Fisicoquímica Del Río Corriente. Reconocimiento E Identificación Dentro Del Sistema Hídrico Correntino. *UNNE*. Obtenido de Universidad Nacional del Noroeste: https://repositorio.unne.edu.ar/bitstream/handle/123456789/27983/RIUNNE_FACEN A_TD_%20Moresi_AL.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Osorto, M., Martinez, D., & Merlo, V. (2023). Evaluación de la calidad de agua mediante un analisis multivariante en los esteros del Golfo de Fonseca, Honduras. *Invemar*, *52*(1). doi:https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2023.52.1.1181
- Pérez, S., Coto, O., Echemendía, M., & Ávila, G. (2015). Pseudomonas fluorescens Migula, ¿control biológico o patógeno? *Revista de Protección Vegetal*, 30(3). Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1010-27522015000300008&script=sci_arttext

- Pinzón, A. (2019). Pseudomonas. *Acta Medica Colombiana*, 44(1). Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-24482019000100052
- Poma, M., & Cuenca, D. (2022). Estrategias de intervención por medio del espacio público y las prácticas del habitar para mitigar impactos ambientales del crecimiento urbano desregulado en Puerto Bolívar, Machala, Ecuador. *Urbe*(14). Obtenido de Universidad de Concepcion: http://revistas.udec.cl/index.php/urbe/article/view/5966
- Quesada, A. (2020). Estudio de Vibrios vulnificus en estras comercializadas en un criadero y en un mercado de la provincia de Santa Elena. *Ug.* Obtenido de http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/49266/1/BCIEQ-T-0507%20Guzm%c3%a1n%20Su%c3%a1rez%20Ericka%20Carolina%3b%20Urgiles %20Guaman%20Ana%20Grace.pdf
- Quintanilla, A. (2020). Diagnóstico de la calidad físico química y biológica del agua en el golfo de fonseca, la unión, el salvador. Propuestas para el desarrollo sostenible. *ITCA FEPADE*. Obtenido de http://www.redicces.org.sv/jspui/bitstream/10972/4217/1/13%20La%20Uni%c3%b3n%20Calidad%20del%20Agua%20Ebook.pdf
- Quintanilla, A., & Castro, J. d. (2022). Estudio de la calidad del agua en estanques e implementación de un protocolo de buenas prácticas acuícolas en la producción de camarón marino en camaronera Eben Ezer, San Alejo, La Unión. *Redicces*(15), 36-42. Obtenido de http://redicces.org.sv/jspui/handle/10972/4555
- Rivera, C., Letelier, J., Pizarro, B., Tobar, T., Torres, C., Cataldo, A., . . . Rivera, M. (2020). Calidad del agua del Estero El Sauce, Valparaiso, Chile Central. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 36(2). Obtenido de https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992020000200261
- Thompson, J., & Polz, M. (2006). *Dynamics of Vibrios Populations and Their Role in Environmental Nutrient Cycling*. Obtenido de Wiley: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1128/9781555815714.ch13

- Weimer, A., Kohlstedt, M., Volke, D., Nikel, P., & Wittmann, C. (2020). Industrial biotechnology of Pseudomonas putida: advances and prospects. *Springer link*, 7745–7766. Obtenido de https://doi.org/10.1007/s00253-020-10811-9
- Zelada, R. (2020). Modelo hidrodinámico de la marea roja en la bahía quellón. *Uchile*. Obtenido de Repositorio de la Universidad de Chile: https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/177548/Modelo-hidrodinamico-de-la-marea-roja-en-la-Bahia-Quellon.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Zúniga, S., Martínez, Y., & Carrasco, L. (2022). Incidencia de colonias amarillas y verdes del género Vibrios encontradas en los hepatopáncreas de camarones Litopenaeus vannamei presentes en dos granjas de cultivos en las zonas de León y Chinandega. *UNAN*.

 Obtenido de UNAN: http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/9461/1/250666.pdf

13. ANEXOS

Tabla 3 prueba de rango de comparaciones múltiples de Duncan de la concentración de Pseudomonas

Concentración bacteriana de Pseudomonas				
Duncan ^{a,b}				
Fase lunar	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		A	В	
Luna Llena (Aguaje)	4	16,2500		
Luna Creciente	4	27,0850		
Normal	8	461,5838		
Luna Menguante	2	1424,1650	1424,1650	
Luna Nueva (Aguaje)	4		3272,0750	
Sig.		,249	,106	

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,636.
- b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

prueba de rango de comparaciones múltiples de Duncan de la concentración de Vibrioss

Concentración bacteriana de Vibrioss				
Duncan ^{a,b}				
Fase lunar	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		A	В	
Luna Nueva (Aguaje)	4	120,4425		
Normal	8	127,9175		
Luna Creciente	4	257,9175		
Luna Llena (Aguaje)	4	762,1075	762,1075	
Luna Menguante	2		942,5000	
Sig.		,069	,563	

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,636.
- b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Tabla



Figura 19 Recolección de muestras Semana 1



Figura 20 Recolección de muestras Semana 2

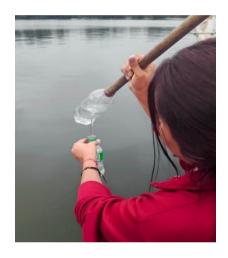


Figura 21 Recolección de muestras Semana 4



Figura 22 Recolección de muestras Semana 3



Figura 24 Recolección de muestras Semana 5



Figura 23 Plaqueo microbiológico



Figura 25 Cultivo en placa de Pseudomonas en pleamar (6-11-2023)



Figura 26 Cultivo en placa de Pseudomonas en bajamar (6-11-2023)



Figura 27 Cultivo en placa de Vibrios



Figura 28 Cultivo en placa de Vibrios Bajamar y Pleamar (30-10-23)



Figura 30 Cultivo en placa de Vibrios en pleamar (20-11-23)

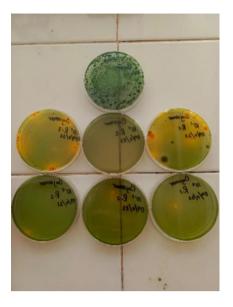


Figura 29 Cultivo en placa de Vibrios en bajamar (20-11-23)

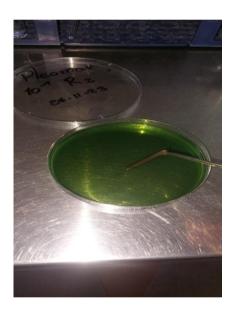


Figura 31 Cultivo en placa de Vibrios



Figura 32 Pleamar en el punto de muestreo



Figura 33 Bajamar en el punto de muestreo